ZOOLOGIA

ESTUDIOS TAXONOMICOS, ONTOGENETICOS, ECOLOGICOS Y ETOLOGICOS SOBRE LOS OSTRACODOS DE AGUA DULCE EN COLOMBIA — III. EL PRENAUPLIO Y SU PAPEL EN LA ECLOSION DEL HUEVO EN EL GENERO *CHLAMYDOTHECA* SAUSSURE 1858 (OSTRACODA, PODOCOPA, CYPRIDIDAE)

Por

Ewald W. Roessler *

RESUMEN

El estudio describe el exoesqueleto prenauplial de algunas especies del género *Chlamydotheca* y hace énfasis en la presentación de la estructura funcional de este mismo, respecto a su papel en los procesos que causan la eclosión. Se comprueba la existencia de dos períodos en el desarrollo embrionario que muestran actividad osmótica, induciendo la segunda fase, la eclosión, y subsiguientemente el último paso de la primera muda.

SUMMARY

The study describes the exoskeleton of the pronauplius of some species of the genus *Chlamydotheca* with special reference to its functional structure and its role in the hatching processes. Two periods of the late embriological development will be described that show osmotic activity, the latter primarily causes hatching and finally terminates the first molting process.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie wird das pronaupliale Exoskelett einiger Arten der Gattung *Chlamydotheca* beschrieben unter besonderer Beruecksichtigung seiner Funktionsstruktur im Hinblick auf den Schlupfprozess. Es werden zwei Perioden der spaeten Embryonalentwicklung vorgestellt, die sich

---

* Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas.

durch starke osmotische Aktivitaet auszeichnen und von denen die zweite zunaechst den Schlupfprozess verursacht und danach die erste Haeutung abschliesst.

INTRODUCCION

La primera etapa en el desarrollo embrionario del género *Chlamydotheca* termina con la formación de un embrión que posee tres pares de extremidades. La secreción de una cutícula indica su preparación para una vida larvaria fuera de las capas protectoras del huevo (Roessler, 1980, II). Este "prenauplio", sin embargo, no sale de las capas del huevo sino sigue su desarrollo dentro de la cáscara hasta formarse el metanauplio, el cual lleva a cabo la eclosión dentro del exoesqueleto prenauplial intacto. La primera muda en la ontogenia se inicia poco tiempo después de la secreción de la cutícula del prenauplio en etapas muy tempranas de la diferenciación del metanauplio. Con la ruptura del exoesqueleto prenauplial después de la eclosión se lleva a cabo el último paso de la primera muda después de un período prolongado de diferenciación del metanauplio.

Este estudio tiene como objetivo principal la descripción de la estructura funcional del exoesqueleto prenauplial respecto a su papel en los procesos de la eclosión. Se hace énfasis en la descripción de algunos hechos fisiológicos antes de la eclosión.

El estudio fue apoyado por Colciencias (Proyecto No. 20004-1-20-78) y por la Universidad de los Andes.

MATERIALES Y METODOS

El material de huevos, embriones y larvas de este estudio fue obtenido de cultivos de *Chlamydotheca unispinosa* (Baird), *Chlamydotheca* sp. (n.s.), (ambos procedentes del Valle del Cauca) y *Chlamydotheca* sp., procedente de la Sabana de Bogotá. La eclosión artifical se llevó a cabo por disección de la cáscara del huevo mediante el uso de agujas de disección.

En las figuras se usan las siguientes abreviaturas:

c.a.: cámara anterior del exoesqueleto prenauplial; c.h.: cáscara del huevo; m.: metanauplio; m.s.: membrana separadora; p.c.: proceso caudal.

PRENAUPLIO, PRIMERA MUDA Y ECLOSIÓN

Con la puesta del huevo se inicia la primera fase en el desarrollo embrionario. Este período incluye la formación de un embrión que posee tres pares de extremidades y que con la secreción de una cutícula aparentemente se prepara para una vida larvaria fuera de las capas protectoras del huevo. Sin embargo, no sale esta etapa ontogenética de la cáscara del huevo sino sigue su desarrollo dentro de las capas del huevo, iniciándose una muda embrionaria cuya última fase se lleva a cabo después de la eclosión (comp. Figs. 1 y 2).

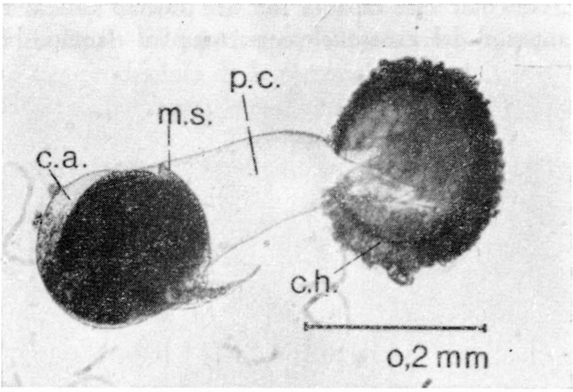

FIGURA 1. *Chlamydotheca unispinosa* (Baird). Metanauplio dentro del exoesqueleto prenauplial en el proceso de la eclosión. La eclosión se lleva a cabo a pesar de la muerte del metanauplio causado por una sequía temporal. El metanauplio se encuentra en estado de descomposición, no alcanza la presión hidrostática a romper la cutícula prenauplial.

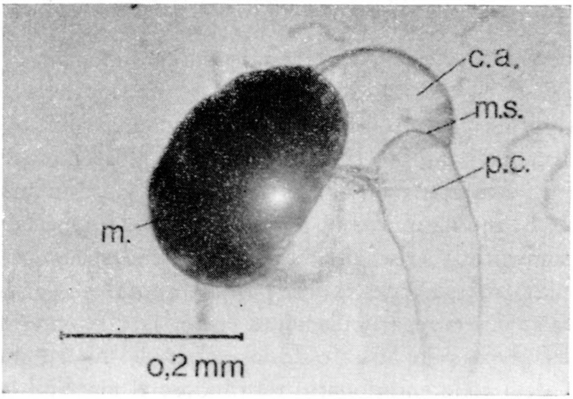

FIGURA 2. *Chlamydotheca unispinosa* (Baird). Con la salida del metanauplio del exoesqueleto prenauplial se lleva a cabo la última etapa de la primera muda. Comienza la actividad de las extremidades separándose el metanauplio de la cutícula del prenauplio.

La etapa ontogenética en cuestión fue denominada como "prenauplio" por poseer tres pares de extremidades, las cuales son las primeras antenas, las segundas antenas y las mandíbulas (comp. Roessler, 1980, II). Carácter específico recibe el prenauplio por la formación de un tronco alargado que fue denominado como "proceso caudal". Después de la secreción de la cutícula, que incluye a todo el embrión, se retira el material celular del proceso caudal. Esta segunda fase en el desarrollo embrionario se destaca por la secreción de una membrana cuticular que tapa la luz del proceso caudal en su conexión con la parte anterior del exoesqueleto prenauplial (comp. Fig. 3). Queda reducida casi por completo la luz del proceso caudal por el arrugamiento de la superficie cuticular formándose pliegues finos sobre el perímetro del proceso caudal (comp. Fig. 4). Al finalizar esta segunda fase se presenta el prenauplio dentro de la cáscara del huevo con un exoesqueleto cuticular, el cual consiste de dos partes que quedan separadas por una membrana cuticular fina. Fuera de la cutícula no se presentan caracteres morfológicos que muestren el alistamiento de esta etapa ontogenética para la vida larvaria fuera de las capas del huevo. El ojo nauplio está poco diferenciado, especialmente no están diferenciados pigmentos y cristalinos. Las extremidades se conservan en estado rudimentario y las articulaciones con la pared corporal no permiten movimientos eficaces. No se observan articulaciones entre las diferentes unidades de las extremidades. El prenauplio no sale de las capas del huevo sino que sigue la tercera fase del desarrollo embrionario retirándose el material celular de la cutícula de la "cámara anterior" del exoesqueleto prenauplial y diferenciándose la etapa ontogenética subsiguiente, el metanauplio (comp. Fig. 7).

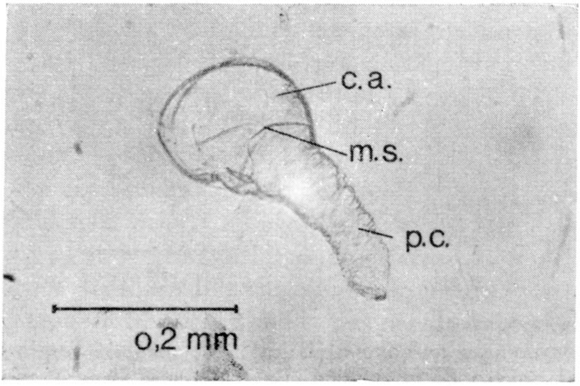

FIGURA 3. *Chlamydotheca* sp. 1. Exuvia prenauplial obtenida después de la eclosión natural y la salida del metanauplio.

Mientras el prenauplio fuera del exoesqueleto no presenta rasgos morfológicos que indiquen su alistamiento para una vida larvaria, sí se presentan fenómenos fisiológicos que pueden mencionarse como vestigios de procesos filogenéticamente antiguos que originalmente causaron la eclosión de una larva nauplial mejor adaptada para la vida libre fuera de las capas protectoras del huevo. La eclosión experimental del prenauplio a través de la disección de la cáscara del huevo en la fase después de la retirada del material embrionario del proceso caudal causa un hinchamiento del exoesqueleto, incluyendo su proceso caudal (Fig. 5). Aparentemente existe una capacidad de liberar sustancias osmóticamente activas hacia el espacio entre la cutícula anteriormente secretada y el epidermo (o hipodermo) del embrión, la cual se conserva durante un cierto tiempo después de la secreción de la cutícula. Cabe mencionar que esta capacidad de hinchamiento se pierde durante el desarrollo subsiguiente para recuperarse antes del alistamiento del metanauplio para la salida del exoesqueleto prenauplial (comp. Figs. 2, 6 y 7). Este último proceso se debe a la liberación o activación de sustancias osmóticamente activas procedentes en este período del metanauplio que causan como efecto adicional la eclosión.

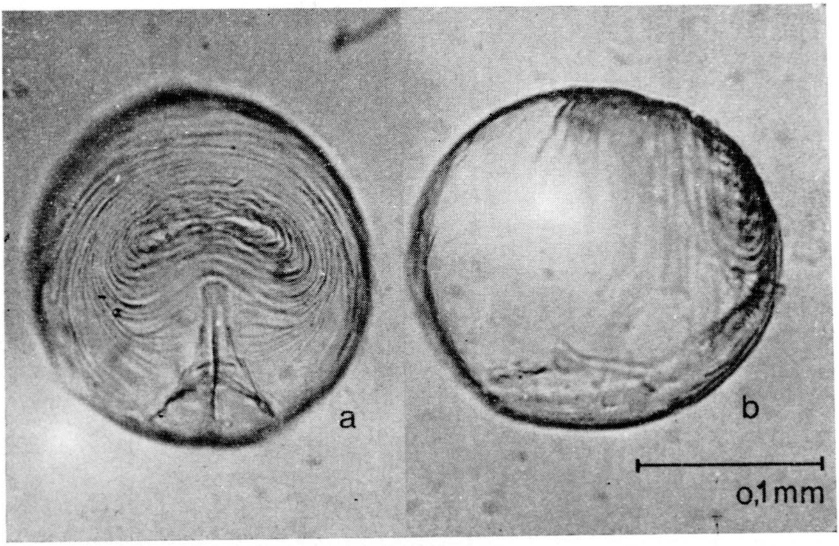

FIGURA 4. *Chlamydotheca* sp. Exuvia prenauplial obtenida por eclosión artificial y liberación del metanauplio. Vista caudal (a) y lateral (b). Obsérvese la distribución de los pliegues cuticulares y la desaparición de la luz del proceso caudal por el plegamiento de la cutícula.

La eclosión artificial a través de una disección resulta en tres diferentes tipos de comportamiento de los respectivos períodos, según los hechos anteriormente mencionados. La liberación del prenauplio después o durante la retirada del material celular del proceso caudal causa un hinchamiento fuerte y demuestra de esta forma la presencia de sustancias osmóticamente activas (comp. Fig. 5). En el período subsiguiente se pierde paulatinamente esta capacidad; la disección resulta en un exoesqueleto prenauplial que presenta una superficie plegada y que contiene el metanauplio en etapas tempranas de

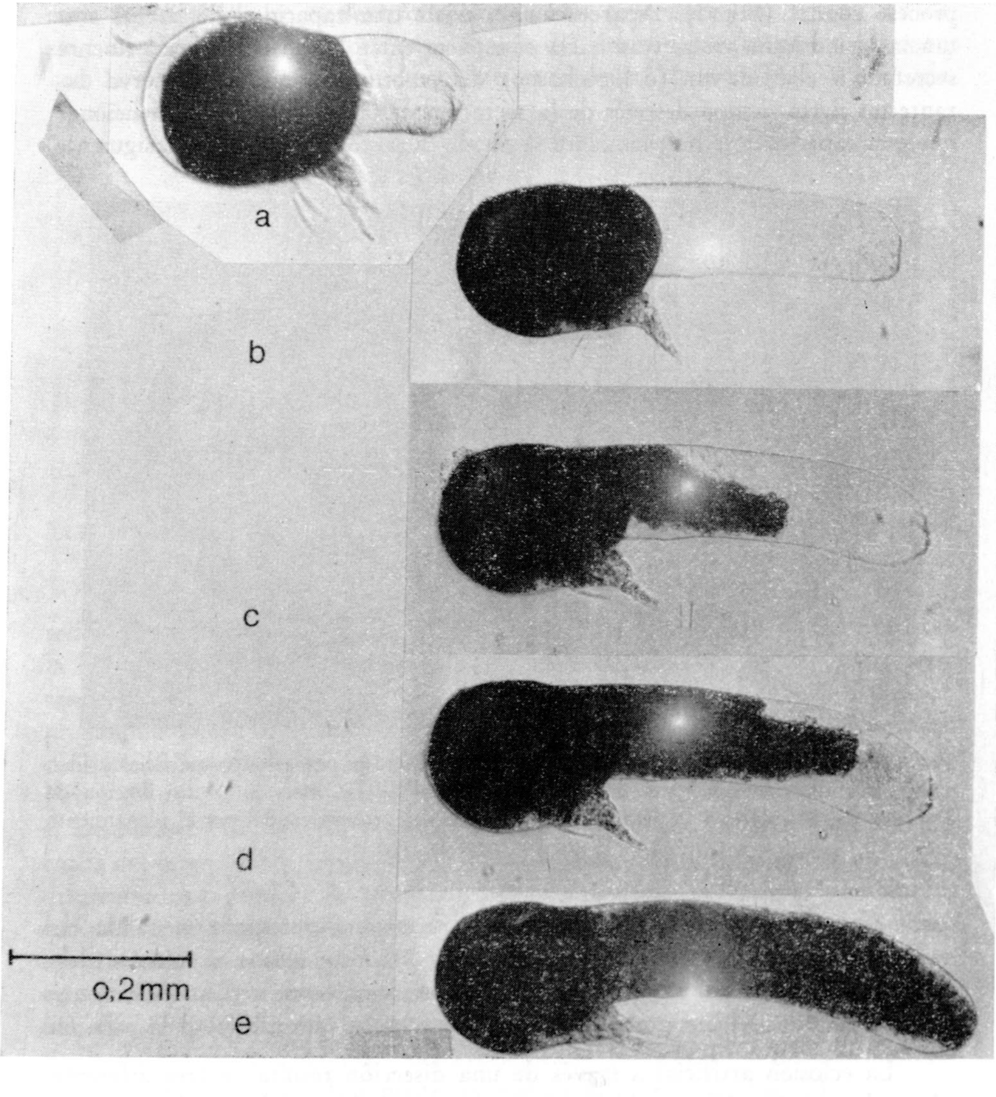

FIGURA 5. *Chlamydotheca* sp. 1. Prenauplio en la fase osmóticamente activa obtenido por eclosión artificial. En esta fase la membrana separadora todavía no ha alcanzado su dureza definitiva. Por la presión hidrostática en la cámara anterior se rompe la membrana durante el hinchamiento del proceso caudal (a - e) y entra material celular al proceso caudal (c - e).

su diferenciación (Fig. 6). Al principio de este período se presenta un hinchamiento muy ligero que más tarde casi no puede observarse. Sin embargo, en todo este período intermedio se mantiene una ligera tensión hidrostática que actúa contra la cáscara del huevo. En este período se puede obtener el exoesqueleto prenauplial cortando la parte frontal en dirección dorsoventral y liberando al metanauplio en estado poco diferenciado. De esta forma se lleva a cabo artificialmente adelantado el último paso en la primera muda resultando una exuvia prenauplial que bajo condiciones naturales no se observa (Fig. 4). El metanauplio puede obtenerse de esta manera en etapas muy tempranas que sí presentan una cutícula pero que, por ejemplo, todavía no presentan pigmentos diferenciados del ojo nauplio. Es interesante anotar que estas etapas del metanauplio se prestan para su cultivo y observación de su desarrollo fuera de las capas del huevo y fuera de la cutícula prenauplial hasta llegar a su estado maduro, en el cual salen de la cáscara bajo condiciones normales. Cabe anotar, además, que estas etapas se prestan perfectamente para estudios de diferente índole, especialmente en cuanto al desarrollo ontogenético del comportamiento que se expresa en movimientos "autónomos" e inducidos de las extremidades. El hecho de que pueden inducirse movimientos de las extremidades en forma de coordinación motora "normal" por irritación mecánica manifiesta de forma muy clara lo secundario en la situación actual del metanauplio.

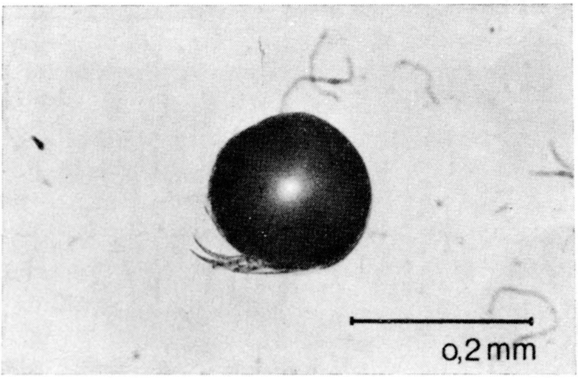

FIGURA 6. *Chlamydotheca* sp. 1. Metanauplio inmaduro dentro del exoesqueleto prenauplial en la fase intermedia, osmóticamente inactiva.

La exuvia del prenauplio obtenido por disección de la cáscara del huevo y el corte frontal se presta para el estudio de la situación estructural básica antes del desencadenamiento de los procesos que culminan en la eclosión y el paso final de la primera muda. La distribución, el extendimiento y la secuencia en el desprendimiento de los pliegues son parámetros de importancia

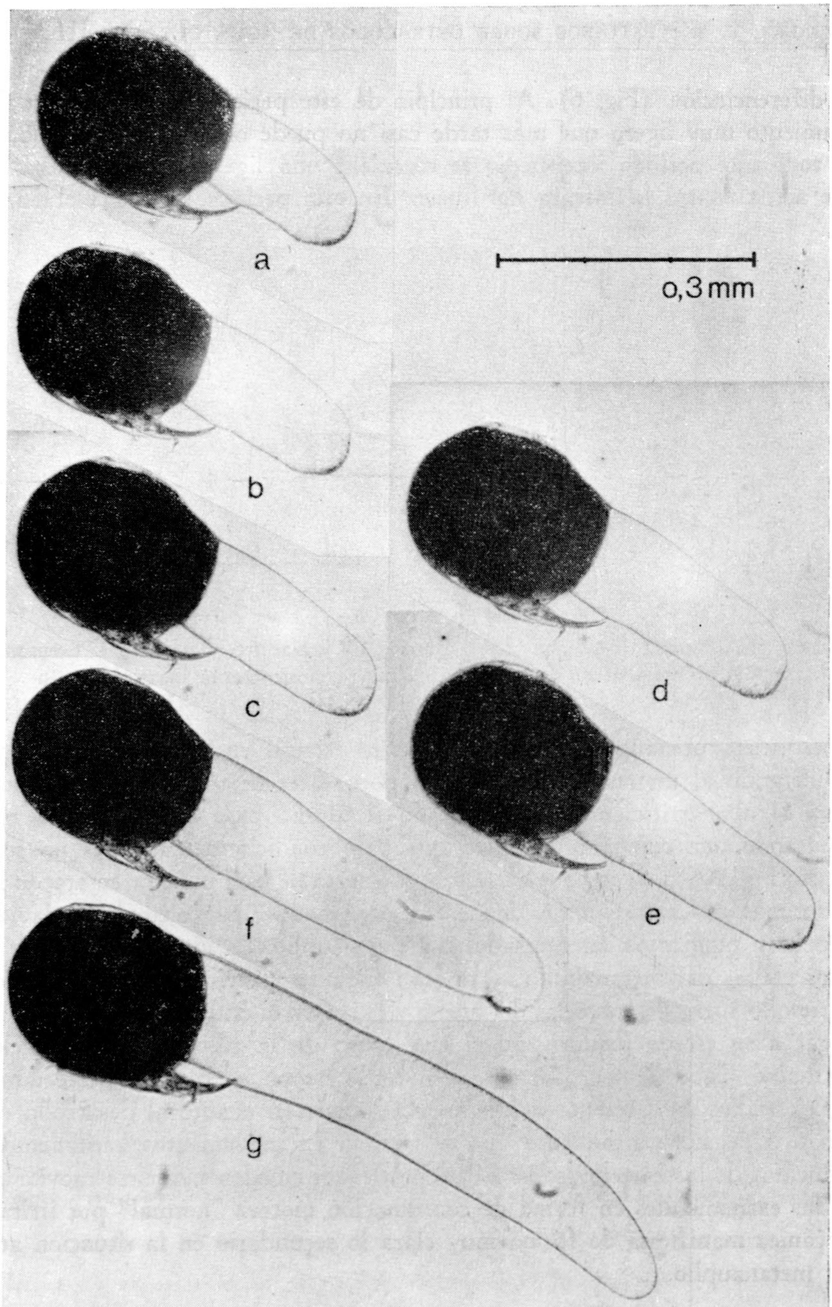

FIGURA 7. *Chlamydotheca* sp. 2. Metanauplio dentro del exoesqueleto prenauplial obtenido por eclosión artificial. Se observa el hinchamiento creciente del proceso caudal (a - g). El desplegamiento se lleva a cabo paulatinamente en dirección antero-posterior, conservándose los pliegues solamente en la parte caudal hasta alcanzar el proceso caudal su extensión máxima (g).

para el funcionamiento ordenado del exoesqueleto prenauplial en la eclosión. Los pliegues se extienden transversalmente sobre el perímetro del proceso caudal y de la parte anterior del exoesqueleto y son más densos en las partes posteriores de ambas secciones (comp. Fig. 4). El desprendimiento de los pliegues después de la liberación o activación de sustancias osmóticamente activas comienza en las partes delanteras de ambas partes del exoesqueleto prenauplial, pero más rápido y fuerte en la superficie del proceso caudal (Figs. 5 y 7). El hinchamiento del exoesqueleto de esta forma es aproximadamente la inversión del arrugamiento de la cutícula teniendo en cuenta la secuencia de la formación de los pliegues en el espacio y en el tiempo. Con el hinchamiento del proceso caudal se aumenta sucesivamente la presión en la cámara anterior causando en forma retrasada el desprendimiento y extendimiento de los pliegues cuticulares. El hecho de que la parte frontal de la cámara anterior sufre con anticipación el desplegamiento en comparación con la parte posterior, aparentemente causa mayores fuerzas contra la elasticidad de esta parte, las cuales bajo condiciones normales se aumentan todavía más por la presión de las partes frontales de las valvas del metanauplio. A partir de un punto crítico comienza a romperse la cutícula exactamente en la parte frontal y la rotura se extiende hacia arriba y abajo siguiendo las líneas del doblamiento lateral que indican los límites laterales del caparazón (Fig. 2). Hay que destacar que estos últimos sucesos anteriormente citados requieren el extendimiento completo del proceso caudal, hecho que garantiza la salida del metanauplio de las capas del huevo dentro del exoesqueleto intacto del prenauplio.

Merece interés especial la "membrana separadora" que tapa la luz del proceso caudal en su conexión con la cámara anterior del exoesqueleto prenauplial. Queda problemático su valor filogenético, mencionando que durante la formación de dos etapas ontogenéticas claramente definidas, se observan tres fases temporalmente separadas que se destacan por la formación de una cutícula. La secreción de una cutícula indica normalmente una parte de la fase inicial de una muda que termina con la salida de la etapa nueva de la exuvia vieja. Contamos en el caso presente con dos excepciones. En primer lugar se destaca la distancia temporal entre la iniciación de la primera muda con la secreción de la cutícula del metanauplio y de su paso final con la ruptura del exoesqueleto prenauplial y la salida del metanauplio. Como efecto adicional fue mencionada ya la eclosión. La segunda excepción es la secreción de una cutícula restringida a una determinada área en la parte caudal de un embrión prenauplial que acaba de reducir un tronco alargado. Los hechos fisiológicos observables a través del comportamiento del exoesqueleto prenauplial durante las diferentes fases del hinchamiento y después de su ruptura, indican una ultraestructura distinta de esta membrana separadora en comparación con el resto del exoesqueleto prenauplial. Para la explicación del hinchamiento del proceso caudal junto con la parte anterior existen dos posibilidades. La liberación de sustancias osmóticamente activas que atraviesan la membrana separadora pero no pueden atravesar la cutícula externa por su naturaleza semipermeable, representa la primera posibilidad. Esto implica una naturaleza distinta de la membrana separadora en cuanto a su permeabilidad. La segunda posibilidad sería la liberación de una sustancia que pueda atravesar la cutícula y que activa sustancias de naturaleza distinta anteriormente depositadas y que desarrollen después de su activación una presión osmótica. En este caso la ultraestructura de la membrana separadora no necesariamente tendría que ser distinta. El comportamiento del proceso caudal después de la ruptura de la cámara anterior del exoesqueleto prenauplial indica claramente una solución a favor de la primera posibilidad. Las fuerzas elásticas de la cutícula de ambas partes tienden fuertemente a disminuir su tamaño y de esta manera expulsan gran parte de su contenido a través de la ruptura, atravesando de este modo parte del contenido del proceso caudal a la membrana separadora. Hay que destacar que la pérdida del volumen del proceso caudal es bastante grande y tiene que incluir las sustancias osmóticamente activas. Esta corriente de líquido posiblemente ayuda en la salida del metanauplio.

DISCUSION

El exoesqueleto prenauplial presenta una estructura funcional cuyas características morfológicas juegan papel decisivo que garantiza los procesos que llevan a cabo la eclosión. La distribución de los pliegues de la superficie cuticular del exoesqueleto prenauplial, y más específicamente su desplegamiento ordenado en el tiempo y el espacio durante el hinchamiento causan primero la eclosión y garantizan la ruptura del exoesqueleto en su parte frontal después de la salida de las capas del huevo. La ruptura prematura de la cutícula prenauplial interrumpe el proceso de la eclosión y causa la muerte de la larva.

La eclosión artificial a través de la disección de la cáscara del huevo y la ruptura subsiguiente de la cutícula prenauplial liberan al metanauplio en etapas prematuras que permiten el estudio de su desarrollo en diferentes aspectos. Interés particular merece la capacidad del metanauplio de desarrollar actividades natatorias de las extremidades a partir de la secreción de la cutícula. Estos movimientos se producen especialmente como reacción a estímulos mecánicos. Movimientos espontáneos son raros y tampoco se observan frecuentemente dentro de las capas del huevo. La actividad de las extremidades no juega papel en el proceso de la eclosión ni en la ruptura de la cutícula prenauplial. Movimientos natatorios se observan por primera vez bajo condiciones normales durante la expulsión del metanauplio del exoesqueleto prenauplial.

Una actividad espontánea prematura de las extremidades conlleva el peligro del rompimiento de la cutícula prenauplial antes de la eclosión. Las observaciones de otros autores sobre movimientos de las extremidades dentro de las capas del huevo y su papel en la eclosión requieren de su comprobación (comp. Hartmann, 1968).

La existencia de dos períodos en el desarrollo ontogenético dentro de la cáscara del huevo que se caracterizan por la liberación de sustancias osmóticamente activas indica lo secundario en la situación actual del prenauplio y del metanauplio. Mientras en el segundo período la presión hidrostática supera las fuerzas elásticas de las capas del huevo y lleva a cabo la eclosión, no alcanza en el primer período este nivel crítico pero sí alcanza a hinchar al exoesqueleto prenauplial después de la eclosión artificial. La eclosión artificial revela que en la mayoría de los casos en el primer período la presión hidrostática tampoco alcanza para romper el exoesqueleto prenauplial. Se observa frecuentemente en estos casos que se rompe la membrana separadora durante el hinchamiento y que entra material celular en el proceso caudal. Este evento se observa con frecuencia inmediatamente después de la formación de la membrana separadora. En otros casos se rompe la cutícula, especialmente en la zona de fusión de las segundas antenas con la pared corporal. Bajo estas circunstancias el material celular sale al exterior. Cabe mencionar que en esta fase todavía no se han formado los pliegues superficiales que aparentemente más tarde representan una reserva de elasticidad en la parte posterior de la cámara anterior, asegurando la ruptura de la cutícula en el lugar apropiado. La liberación de sustancias osmóticamente activas comienza aparentemente durante el segundo período ya mucho tiempo antes de la eclosión y la presión hidrostática se aumenta paulatinamente hasta romper la cáscara del huevo y más tarde el exoesqueleto prenauplial. El desarrollo del comportamiento está estrechamente relacionado con estos eventos. El cultivo de los metanauplios fuera de las capas del huevo y de la cutícula del prenauplio después de la eclosión artificial muestra que el desarrollo de la actividad "espontánea" de las extremidades coincide temporalmente con la eclosión.

RESUMEN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

PRIMERA FASE: Puesta del huevo.

Formación del prenauplio con tronco alargado ("proceso caudal"). Secreción de la cutícula prenauplial.

SEGUNDA FASE: Retirada del material celular de la cutícula del proceso caudal y reducción de este mismo (= primer paso de la primera muda). Secreción de la "membrana separadora".

TERCERA FASE: Retirada del material celular de la cutícula de la "cámara anterior" del exoesqueleto prenauplial (= segundo paso de la primera muda). Secreción de la cutícula metanauplial y diferenciación del metanauplio.

Eclosión.

Ruptura del exoesqueleto prenauplial y salida del metanauplio (= tercer paso de la primera muda).

OBRAS CITADAS

HARTMANN, Gert.

1968 In Dr. H. G. Bronns, Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. 5, I. Abt., 2. Buch, IV. Teil, 3. Liefetung, Ostracoda, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft. Geest & Portig K. - G. pp. 409-568, figs. 261-373.

ROESSLER, Ewald W.

1980 Estudios taxonómicos, ontogenéticos, ecológicos y etológicos sobre los ostrácodos de agua dulce en Colombia. — II. Contribución al conocimiento del desarrollo embrionario tardío y de los procesos de la eclosión del huevo de *Heterocypris bogotensis* Roessler (Ostracoda, Podocopa, Cyprididae). Caldasia, XIII (63): 453-465.